

شناسایی و تعیین مکان گیرنده‌های HCA2 در دستگاه ادراری موش صحرایی نر به روش ایمونوهیستوشیمی

سمیه حامدی^۱، طه‌ورا شمالی^{۲*}، محمد معماریان مجرب^۱

^۱ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران؛ ^۲ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۷

چکیده:

زمینه و هدف: گیرنده HCA2 به عنوان هدف داروی مهم کاهنده لیپیدهای سرمی، یعنی نیاسین، بسیار مورد توجه است. این مطالعه به تعیین حضور و نیز شناسایی نوع سلول‌های بیان‌کننده این گیرنده در بافت‌های مختلف دستگاه ادراری موش صحرایی نر شامل کلیه، میزنای، مثانه و میزراه (در پنیس) می‌پردازد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از ۶ سر موش صحرایی بالغ از نژاد Wistar استفاده شد. مقاطع بافتی از بخش‌های فوق‌الذکر تهیه و به روش ایمونوهیستوشیمی بررسی شدند.

یافته‌ها: در کلیه رنگ‌پذیری شدیدی در آندوتلیوم مویرگ‌ها دیده شد درحالی‌که اپی‌تلیوم توبول‌های درهم‌پیچیده نزدیک به نحو متوسطی رنگ گرفتند. اپی‌تلیوم قوس هنله، توبول‌های درهم‌پیچیده دور و جمع‌کننده و نیز گلومرول، رنگ‌پذیری ضعیفی نشان دادند. در مثانه، بافت پوششی انتقالی و آندو تلیوم مویرگی رنگ‌پذیری ضعیفی از خود نشان دادند در صورتی‌که سلول‌های عضلانی صاف هیچ‌گونه رنگ‌پذیری نداشتند. در میزنای بافت پوششی انتقالی و نیز سلول‌های ماهیچه‌ای صاف رنگ‌پذیری ضعیفی داشتند؛ در بافت پنیس بافت پوششی میزراه و ماهیچه‌های صاف رنگ‌پذیری ضعیف داشتند درحالی‌که آندو تلیوم مویرگ‌ها رنگ‌پذیری متوسطی نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر بیانگر حضور گیرنده‌های HCA2 در سلول‌های متفاوت دستگاه ادراری موش صحرایی نر است. توزیع این گیرنده‌ها بسته به نوع سلول و نیز محل سلول در دستگاه ادراری، متفاوت است. این یافته‌ها زمینه مساعدی را برای مطالعات آتی روی نقش احتمالی این گیرنده‌ها در دستگاه ادراری فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: HCA2، ایمونوهیستوشیمی، دستگاه ادراری، موش صحرایی.

مقدمه:

می‌باشند. سه تحت تیپ از این گیرنده‌ها تاکنون شناسایی شده‌اند: گیرنده‌های HCA1 که با لاکتات فعال می‌شوند و نیز گیرنده‌های HCA2 و HCA3 که به ترتیب با ۳-هیدروکسی بوتیرات و واسطه‌های ۳-هیدروکسیله بتا اکسیداسیون تحریک می‌گردند. هر سه تحت تیپ‌های این گیرنده‌ها به صورت عمده در بافت چربی بیان می‌شوند و فعال شدن آن‌ها اثر ضد لیپولیز دارد (۱).

گیرنده‌های جفت شده با پروتئین (G-protein coupled receptors) از جمله مهم‌ترین اهداف درمانی به شمار رفته و بسیاری از داروها از طریق برهم‌کنش با آن‌ها اثر درمانی خود را اعمال می‌نمایند. گیرنده‌های هیدروکسی کربوکسیلیک اسید (HCA)، دسته‌ای از این گیرنده‌های پروتئینی موجود در غشای سلول هستند که دارای تمایل برای اتصال به چندین ترکیب واسطه‌ای متابولیسم سلول

*نویسنده مسئول: گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران - تلفن: ۰۹۱۲۵۷۰۶۰۷۳، E-mail: tshomali@shirazu.ac.ir

نیاسین می شود که به دنبال گشادشدن رگ ها روی می دهد و کاملاً با اثر ضد لیپولیز آن در سلول های چربی تفاوت دارد (۹). همچنین ممکن است این گیرنده در پاسخ های التهابی نقش داشته باشد (۶). با توجه به این موارد و نیز در نظر گرفتن این مساله که تاکنون حضور این گیرنده ها در دستگاه ادراری در سطح پروتئینی در هیچ مطالعه ای انجام نشده است، شناسایی مکان و نوع سلول هایی که این گیرنده را بیان می کنند ضروری به نظر می رسد.

هدف کلی این مطالعه ارزیابی حضور گیرنده های HCA2 در بافت های مختلف دستگاه ادراری موش صحرایی نر و نیز تعیین نوع سلول های بیان کننده آن به روش ایمونوهیستوشیمی است.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی تعداد ۶ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که از نظر بالینی سالم بودند تهیه شد. موش های صحرایی به مدت یک هفته تحت شرایط مشابه محیطی از نظر دما، رطوبت و طول مدت نوردهی (دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی به طور متناوب) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. سپس تمامی ۶ سر موش تحت بیهوشی عمیق استنشاقی با ماده دی اتیل اتر (آسان کشی) شده و بلافاصله پس از آن، نمونه های مناسب از بافت های مختلف دستگاه ادراری شامل کلیه، میزنای، مثانه و پنیس به همراه بافت ریه (به عنوان کنترل مثبت) جداسازی و به فرمالین بافر ۱۰٪ انتقال داده شدند.

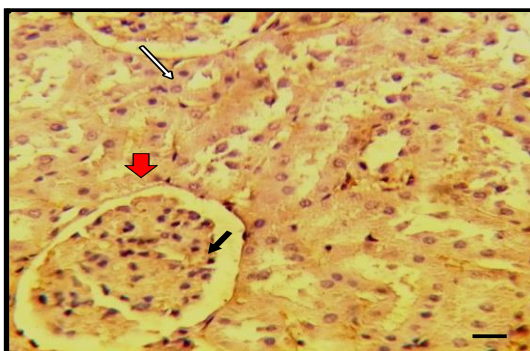
در کلیه مراحل مطالعه، اصول اخلاقی و روش های استاندارد کار با حیوان آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل های اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج مورد نظر قرار داده شد. به منظور ارزیابی نمونه ها با روش ایمونوهیستوشیمی، ابتدا مقاطع عرضی با ضخامت ۵ میکرون از بلوک های پارافینی بافت های مذکور تهیه

در میان سه گیرنده فوق، تحت تیپ HCA2 یا GPR109A بیش از بقیه مورد توجه قرار گرفته است؛ چراکه این گیرنده هدف داروی مهم کاهنده لیپیدهای سرمی یعنی نیاسین یا اسید نیکوتینیک می باشد (۴-۲). درست مانند نیاسین، برهم کنش میان بتا-هیدروکسی بوتیرات به عنوان لیگاند درون زاد با گیرنده HAC2 موجب فعال شدن این گیرنده و کاهش میزان cAMP سلول و مهار لیپاز حساس به هورمون می شود. از آنجا که به دنبال رها شدن اسیدهای چرب از سلول های چربی، تولید بتا هیدروکسی بوتیرات در کبد افزایش می یابد، به نظر می رسد که بتا هیدروکسی بوتیرات با اثر برگیرنده HCA2 در سلول های چربی و کاهش cAMP سلول و متعاقباً مهار لیپولیز، به صورت یک سیستم پس نورد منفی عمل نموده و مانع از رها شدن بیش از حد اسیدهای چرب از سلول های چربی و تجزیه تری گلیسیریدها در این سلول ها می شود. این امر در شرایطی مانند دیابت و گرسنگی مهم است (۵).

علاوه بر بافت چربی، گیرنده نیاسین یا HCA2 در سلول های ایمنی مختلفی از جمله مونوسیت ها، نوتروفیل ها، ماکروفاژها، سلول های دندریتیک و سلول های لانگرهانس اپیدرمی نیز بیان می شود (۹-۶) در ماکروفاژها بیان HCA2 با تجویز اینترفرون گاما القا می شود (۱۰).

بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب موجب تولید استیل کوآنزیم A می شود که این ماده می تواند متعاقباً به اجسام کتونی از جمله بتا-هیدروکسی بوتیرات لیگاند گیرنده (HCA2) تبدیل شود. اگرچه HCA2 عمدتاً برای اثرات ضد لیپولیز در سلول های چربی مورد توجه قرار گرفته است، اما پژوهش های اخیر حاکی از آن هستند که فعال شدن این گیرنده بسته به نوع سلولی که گیرنده را بیان کرده است می تواند منجر به بروز پاسخ های متفاوتی شود. مثلاً فعال شدن این گیرنده بر روی ماکروفاژها و یا سلول های دندریتی پوست منجر به ایجاد واکنش معروف گرگرفتگی ناشی از مصرف

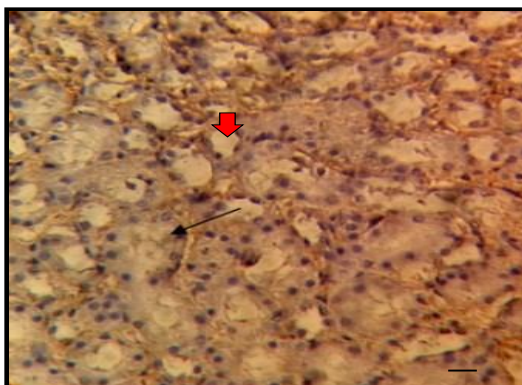
درهم‌پیچیده دور، توپول های جمع کننده و نیز آندوتلیوم مویرگ‌ها مورد ارزیابی قرار داده شدند. رنگ‌پذیری شدیدی در آندوتلیوم مویرگ‌ها دیده شد، درحالی‌که اپی تلیوم توپول های درهم‌پیچیده دور، قوس هنله و جمع کننده و نیز گلومرول رنگ‌پذیری ضعیف نشان دادند. اپی تلیوم توپول های درهم‌پیچیده نزدیک به نحو متوسطی رنگ پذیرفتند (تصاویر ۱ و ۲).



تصویر شماره ۱: بافت کلیه موش صحرایی نر.

نشان‌دهنده رنگ‌پذیری ضعیف در گلومرول کلیه

(پیکان سیاه)، رنگ‌پذیری متوسط اپی تلیوم توپول های درهم‌پیچیده نزدیک (پیکان قرمز) و رنگ‌پذیری ضعیف اپی تلیوم توپول های درهم‌پیچیده دور (پیکان سفید) (رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با استفاده از آنتی‌بادی ضد گیرنده HCA2 موش صحرایی. بار = ۴۰۰ میکرومتر).



تصویر شماره ۲: بافت کلیه موش صحرایی نر.

نشان‌دهنده رنگ‌پذیری ضعیف در توپول های جمع کننده ادرار

شد. پراکسیدازهای درون‌زاد بافتی با انکوباسیون نمونه به مدت ۳ دقیقه در پراکسید هیدروژن ۳٪ در متانول غیرفعال شدند. آنتی‌بادی اولیه مورد استفاده در این پژوهش، آنتی‌بادی چند دودمانی با منشأ خرگوش ضد گیرنده HCA2 موش صحرایی بود. مقطع بافتی به مدت یک‌شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با غلظت ۱/۳۰۰ این آنتی‌بادی انکوبه گردید. آنتی‌بادی ثانویه بکار گرفته‌شده در این پژوهش، ایمونوگلوبولین G چند دودمانی با منشأ موش سوری بود که به آنتی‌بادی خرگوشی اولیه متصل می‌شود. مقطع بافتی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق با غلظت ۱/۲۰۰ این آنتی‌بادی انکوبه شد. هر دو آنتی‌بادی ساخت شرکت Biorbyt Ltd. کشور انگلستان بود. به‌منظور قابل‌رؤیت شدن اتصال آنتی‌بادی به گیرنده از کیت سوسترای DAB ساخت شرکت Abcam کشور انگلستان استفاده شد و انکوباسیون مقاطع به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در دمای اتاق انجام پذیرفت. سپس رنگ‌آمیزی لام ها با رنگ همتاکسیلین صورت گرفت. نمونه‌های کنترل منفی فقط با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شدند (۱۱). بافت ریه با توجه به پیشنهاد شرکت تولیدکننده آنتی‌بادی اولیه، به‌عنوان نمونه کنترل مثبت در نظر گرفته شد. سپس با استفاده از دوربین متصل به میکروسکوپ نوری از نمونه‌ها عکس‌برداری شده و اسلایدها جهت ارزیابی بافتی و شناسایی سلول‌های بیان‌کننده گیرنده مورد مطالعه قرار داده شدند. موارد مثبت از نظر رنگ‌پذیری در رنگ‌آمیزی ایمونو هیستوشیمیایی بر اساس شدت رنگ به سه دسته ضعیف (+)، متوسط (++) و شدید (+++) طبقه‌بندی شدند (۱۲).

یافته‌ها:

کلیه:

در مقاطع بافتی کلیه، گلومرول، اپی تلیوم توپول های درهم‌پیچیده نزدیک، قوس هنله، توپول های

مشخص گردید که مکان قرارگیری یک نوع سلول خاص در بخش های متفاوت دستگاه ادراری می تواند روی میزان بیان گیرنده نقش داشته باشد.

اخیراً گیرنده های HCA2 به دلیل شناسایی نقش های متنوع آنها بخصوص از نظر تأثیرات مهم بر متابولیسم، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. بنابراین شناسایی نحوه توزیع و تعیین سلول های بیان کننده آنها می تواند گامی در جهت زمینه سازی بهره مندی از این گیرنده ها به عنوان اهداف درمانی احتمالی باشد. در این راستا و همسو با مطالعه حاضر Martin و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۱۳) و Yu و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۱۴) بیان گیرنده HCA2 را به ترتیب در شبکه موش و انسان گزارش دادند. همچنین Thangaraju و همکاران در سال ۲۰۰۹ با استفاده از تکنیک Reverse transcriptase-PCR نشان دادند که HCA2 در روده موش و کولون انسان نیز بیان می شود (۱۵). Titgemeyer و همکاران در سال ۲۰۱۱ توزیع بافتی HCA2 را با دو روش Real time RT-PCR و لکه گذاری وسترن در گاو بررسی کرده و گزارش دادند که گیرنده نیاسین در بافت های مختلفی از جمله چربی های ابتدای دم، پشت و پرینه و همچنین در ماهیچه طولی پشت و کبد بیان می شود. بر اساس پژوهش این دانشمندان قسمت های مختلف مغز از جمله قشر مخ، مخچه، تالاموس، هیپوتالاموس و ساقه مغزی نیز گیرنده HCA2 را بیان می کنند (۱۶). همچنین شمالی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان mRNA مربوط به این گیرنده را در ۲۲ عضو و بافت مختلف شامل چربی مزانتریک، اپیدیدیم، بیضه، تخمدان، غضروف خنجر، کبد، غده آدرنال، سر استخوان ران، مغز استخوان ران، مری، پیش معده، روده باریک، کولون، قلب، طحال، نای، ریه، ماهیچه اسکلتی، مخ و مخچه و نیز کلیه موش صحرایی نشان دادند (۱۷). نکته مهم این است که نظر به بیان گیرنده HCA2 در سلول های خونی از جمله مونوسیت ها، نوتروفیل ها و نیز ماکروفاژها (۹-۶) ممکن است نتایج حاصل از ارزیابی به وسیله روش PCR تا حدی متأثر از آلوده بودن نمونه ها به خون و حضور

(پیکان سیاه) و هنله (پیکان قرمز) (رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با استفاده از آنتی بادی ضد گیرنده HCA2 موش صحرایی. بار = ۴۰۰ میکرومتر)

مثانه و میزنای:

در مثانه، بافت پوششی انتقالی، ماهیچه های صاف و اندوتلیوم مویرگ ها مورد ارزیابی قرار داده شدند. سلول های عضلانی صاف هیچ گونه رنگ پذیری نداشتند در صورتی که بافت پوششی انتقالی و آندوتلیوم مویرگی رنگ پذیری ضعیفی از خود نشان دادند. همچنین در میزنای بافت پوششی انتقالی و نیز سلول های ماهیچه ای صاف رنگ پذیری ضعیفی داشتند.

پنیس (پیشابراه پنیسی) یا میزراه:

در پنیس بافت پوششی انتقالی میزراه (تصویر ۳) و نیز ماهیچه های صاف رنگ پذیری ضعیفی داشتند. در این بخش آندوتلیوم مویرگ ها رنگ پذیری متوسطی نشان دادند.



تصویر شماره ۳: بافت پنیس موش صحرایی.

نشان دهنده رنگ پذیری ضعیف سلول های بافت

پوششی انتقالی میزراه

(رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با استفاده از آنتی بادی ضد گیرنده HCA2 موش صحرایی. بار = ۴۰۰ میکرومتر)

بحث:

در مطالعه تجربی حاضر، حضور گیرنده های HCA2 در سطح پروتئینی در سلول های مختلف موجود در دستگاه ادراری موش صحرایی نر شناسایی شد و نیز

سلول‌های خونی در نمونه باشد؛ در ضمن به فرض پاک بودن نمونه‌ها از خون، روش PCR یا لکه‌گذاری و سترن که در مطالعات فوق بدان اشاره گردید، قادر به تعیین دقیق نوع سلول‌های بیان‌کننده گیرنده در بافت‌های مذکور نیستند. بنابراین ارزیابی ایمونو هیستوشیمیایی این بافت‌ها با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی ضد گیرنده در این زمینه راهگشا به نظر می‌رسد. چنانکه نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز نمایانگر توزیع متنوع گیرنده HCA2 در سلول‌های مختلف دستگاه ادراری و حتی یک نوع سلول در قسمت‌های مختلف این دستگاه می‌باشد. همان‌گونه که پیش‌ازین اشاره شد، پژوهش حاضر نشان می‌دهد که در بین بخش‌های متفاوت نفرون، توپول‌های درهم‌پیچیده نزدیک بیش از سایر قسمت‌ها این گیرنده را بیان می‌کنند، هرچند که این سلول‌ها نیز رنگ‌پذیری متوسطی داشتند. حدود ۷۰٪ عملکرد انتقالی توپول‌های کلیوی مربوط به توپول‌های درهم‌پیچیده نزدیک است و این سلول‌ها قادر به استفاده از سوبستراهای متفاوتی جهت تأمین نیاز انرژی خود می‌باشند (۱۸). اسیدهای کربوکسیلیک نظیر بتا-هیدروکسی بوتیرات به‌صورت آزادانه وارد فیلترای گلومرولی می‌شوند، ولی فقط ۳ تا ۳۵٪ آن‌ها در ادرار دفع شده و مابقی به‌وسیله توپول نزدیک باز جذب می‌شوند (۱۹). از سوی دیگر نشان داده‌شده است که افزایش لیپولیز و اکسیداسیون اسیدهای چرب در توپول‌های نزدیک می‌تواند موجب کاهش آسیب بافتی به گلومرول و ایجاد فیروز کلیوی به ترتیب در موارد مصرف جیره پرچرب و نیز انسداد یک‌طرفه میزنای شود (۲۰). با توجه به نقش گیرنده‌های

HCA2 در مهار لیپولیز؛ حضور آن‌ها در توپول نزدیک که در مطالعه حاضر مشخص شد، ممکن است از نظر اهداف دارویی جالب‌توجه باشد. مورد جالب‌توجه دیگری که در مطالعه حاضر نشان داده شد، این است که آندوتلیوم مویرگ‌ها در بخش‌های مختلف دستگاه ادراری رنگ‌پذیری متفاوتی داشتند چنانکه آندوتلیوم مویرگ‌های کلیوی رنگ‌پذیری شدید و آندوتلیوم مویرگ‌های مثانه و پنیس (پیشابراه پنیسی) به ترتیب رنگ‌پذیری ضعیف و متوسطی نشان دادند که حاکی از تراکم کمتر گیرنده‌های HCA2 در این بخش‌ها نسبت به کلیه است.

نتیجه‌گیری:

در کل نتایج مطالعه حاضر بیانگر حضور گیرنده‌های HCA2 در سلول‌های متفاوت دستگاه ادراری موش صحرایی است. توزیع این گیرنده‌ها بسته به نوع سلول و نیز محل سلول در بخش‌های مختلف دستگاه ادراری، متفاوت است. این یافته‌ها زمینه مساعدی را برای مطالعات آتی روی نقش احتمالی این گیرنده‌ها در دستگاه ادراری فراهم می‌کنند.

تشکر و قدردانی:

مطالعه فوق بر اساس پایان‌نامه با کد شماره ۱۱۵۱۰۵۰۱۹۳۱۰۶۰ مصوب ۹۴/۳/۳۰ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شده است.

منابع:

1. Ahmed K, Tunaru S, Offermanns S. GPR109A, GPR109B and GPR81, a family of hydroxy-carboxylic acid receptors. Trends Pharmacol Sci. 2009; 30(11): 557-62.
2. Soga T, Kamohara M, Takasaki J, Matsumoto S-i, Saito T, Ohishi T, et al. Molecular identification of nicotinic acid receptor. Biochem Biophys Res Commun. 2003; 303(1): 364-9.
3. Wise A, Foord SM, Fraser NJ, Barnes AA, Elshourbagy N, Eilert M, et al. Molecular identification of high and low affinity receptors for nicotinic acid. J Biol Chem. 2003; 278(11): 9869-74.
4. Tunaru S, Kero J, Schaub A, Wufka C, Blaukat A, Pfeffer K, et al. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. Nat Med. 2003; 9(3): 352-5.

5. Taggart AK, Kero J, Gan X, Cai TQ, Cheng K, Ippolito M, et al. D- Beta -hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *J Biol Chem.* 2005; 280(29): 26649-52.
6. Schaub A, Fütterer A, Pfeffer K. PUMA-G, an IFN- γ -inducible gene in macrophages is a novel member of the seven transmembrane spanning receptor superfamily. *Eur J Immunol.* 2001; 31(12): 3714-25.
7. Maciejewski-Lenoir D, Richman JG, Hakak Y, Gaidarov I, Behan DP, Connolly DT. Langerhans cells release prostaglandin D2 in response to nicotinic acid. *J Investig Dermatol.* 2006; 126(12): 2637-46.
8. Kostylina G, Simon D, Fey M, Yousefi S, Simon H-U. Neutrophil apoptosis mediated by nicotinic acid receptors (GPR109A). *Cell Death Differ.* 2008; 15(1): 134-6.
9. Benyó Z, Gille A, Kero J, Csiky M, Suchánková MC, Nüsing RM, et al. GPR109A (PUMA-G/HM74A) mediates nicotinic acid-induced flushing. *J Clin Invest.* 2005; 115(12): 3634-40.
10. Tang H, Lu JY-L, Zheng X, Yang Y, Reagan JD. The psoriasis drug monomethylfumarate is a potent nicotinic acid receptor agonist. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 375(4): 562-5.
11. Shomali T, Kamalpour M, Fazeli M, Rafati A. Expression of HCA2 Receptors in Femoral Epiphysis and Metaphysis of Rats with Dexamethasone-Induced Osteoporosis. *Int J Mol Cell Med.* 2016; 5(2): 106.
12. Porzionato A, Rucinski M, Macchi V, Sarasin G, Malendowicz L, De Caro R. ECRG4 expression in normal rat tissues: expression study and literature review. *Eur J Histochem.* 2015; 59(2): 68-9.
13. Martin PM, Ananth S, Cresci G, Roon P, Smith S, Ganapathy V. Expression and localization of GPR109A (PUMA-G/HM74A) mRNA and protein in mammalian retinal pigment epithelium. *Mol Vis.* 2009; 15: 362.
14. Yu AL, Birke K, Lorenz RL, Welge-Lussen U. Constitutive expression of HCA(2) in human retina and primary human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res.* 2014; 39(5): 487-92.
15. Thangaraju M, Cresci GA, Liu K, Ananth S, Gnanaprakasam JP, Browning DD, et al. GPR109A is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Res.* 2009; 69(7): 2826-32.
16. Titgemeyer E, Mamedova L, Spivey K, Farney J, Bradford B. An unusual distribution of the niacin receptor in cattle. *J Dairy Sci.* 2011; 94(10): 4962-7.
17. Shomali T, Mosleh N, Kamalpour M. Screening of Different Organs of Rats for HCA2 Receptor mRNA. *Int J Mol Cell Med.* 2014; 3(2): 126.
18. Mandel LJ. Metabolic substrates, cellular energy production, and the regulation of proximal tubular transport. *Annu Rev Physiol.* 1985; 47(1): 85-101.
19. Wright EM. Transport of carboxylic acids by renal membrane vesicles. *Annu Rev Physiol.* 1985; 47(1): 127-41.
20. Tanaka Y, Kume S, Araki S-i, Isshiki K, Chin-Kanasaki M, Sakaguchi M, et al. Fenofibrate, a PPAR α agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis. *Kidney Int.* 2011; 79(8): 871-82.

Detection and Localization of HCA2 Receptors in Urinary System of Male Rats with Immunohistochemical Method

Hamed S¹, Shomali T^{2*}, Memarian Mojarab M¹

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Alborz, I.R. Iran; ²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, I.R. Iran.

Received: 17/May/2017 Accepted: 10/Sep/2017

Background and aims: HCA2 receptors have attracted much interest due to their role as the target of important hypolipidemic agent, niacin. In this study, the presence of HCA2 receptors as well as cell types that express them has been evaluated in different parts of male rats' urinary system including kidney, ureter, urinary bladder and urethra (in penis).

Methods: In this experimental study, six adult male Wistar rats were used. Histological slides were made from above mentioned parts and were evaluated by immunohistochemical method.

Results: In kidney, capillary epithelium showed a high reactivity while proximal epithelial cells were stained moderately. The epithelial cells of loop of Henle, distal and collective tubules as well as glomerular cells showed weak staining. In urinary bladder, transitional epithelium and capillary endothelium showed weak staining, while smooth muscle had no reactivity. In penile tissue, urethral epithelium and smooth muscle cells were weakly positive while capillary endothelial cells showed moderate reactivity.

Conclusion: This study shows that HCA2 receptors are present in different parts of male rats' urinary tract. Distribution of these receptors is dependent to cell type and location in the urinary tract. The findings pave the road for future studies on possible role of these receptors in urinary system.

Key words: HCA2 receptors, immunohistochemistry, urinary system, rat.

Cite this article as: Hamed S, Shomali T, Memarian Mojarab M. Detection and Localization of HCA2 Receptors in Urinary System of Male Rats with Immunohistochemical Method. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(3): 42-48.

***Corresponding author:**

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, I.R. Iran. Tel: 0098 09125706073, E-mail: tshomali@shirazu.ac.ir